

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. N. Zöllner

VERGLEICHENDE ELEKTRO-
PHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN
MENSCHLICHER HERZMUSKELPROTEINE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Sieglinde Kaiser
geb. Stanciu
aus Berlin

1975

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. med. N. Zöllner

VERGLEICHENDE ELEKTRO-
PHORETISCHE UNTERSUCHUNGEN
MENSCHLICHER HERZMUSKELPROTEINE

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin verfaßt und einer Hohen Medizinischen
Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Sieglinde Kaiser
geb. Stanciu
aus Berlin

1975



Mit Genehmigung des FB Medizin der Universität
München

Berichterstatter: Professor Dr. med. H. NOWY

Mitberichterstatter: Professor Dr. med. N. ZÖLLNER

Dekan: Professor Dr. med. W. SPANN

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Januar 1976

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

B. Methodik

I. Gewinnung und Bezeichnung des Untersuchungsmaterials

II. Die Membranelektrophorese

1. Ausführung der Elektrophorese

2. Auswertung der Fraktionen

C. Ergebnisse

I. Besprechung der Ergebnisse

II. Statistische Analyse

D. Diskussion der Methodik und der Ergebnisse

E. Zusammenfassung

Literaturnachweis

Lebenslauf

A. EINLEITUNG

Die Elektrophorese bietet eine relativ einfache Technik zur Analyse des Eiweißaufbaues verschiedener tierischer und menschlicher Organe. Mit ihrer Hilfe wurden auch Feststellungen über die Proteineigenschaften des Muskelgewebes gewonnen.

Dubuisson und Jacob (8) und Dubuisson (7) haben mit Hilfe der Makroelektrophorese nach Tiselius-Longsworth eine größere Anzahl elektrophoretisch trennbarer Proteine in Muskelextrakten dargestellt.

Demling (6) und Mitarbeiter führten die Papierelektrophorese durch. Diese hat sich nach Helander (12) als wenig geeignet erwiesen für die Trennung von Muskelextrakten, die durch Lösungen höherer Ionenkonzentration gewonnen wurden. Bauer et al. (2) betrachteten die Papierelektrophorese als eine nicht aussichtsreiche Methode bei der Untersuchung von Muskelproteinen, da sie selbst bei Verwendung von Lösungen niedriger Ionenstärke eine geringere Trennschärfe der einzelnen Banden ergibt.

Dagegen ergibt die Stärkegel-Elektrophorese nach Smithies (30) eine scharfe Trennung. Hegnes (14) konnte mit diesem Verfahren 12 Komponenten nachweisen und eine Subfraktionierung von einigen Fraktionen, wie Myoalbumin, darstellen. Bauer und Mitarbeiter (2) wiesen bei der Agarose-Elektrophorese von wässrigen Extrakten aus menschlicher Muskulatur fünf bis acht Fraktionen nach.

Die Celluloseacetat-Elektrophorese nach Kohn (16) hat sich aufgrund einer ausgesprochen scharfen Abzeichnung der Bänder, des Fehlens der bekannten Albuminschleppe (minimale Adsorption der Proteine) und einer erhöhten Trenngeschwindigkeit vermehrt durchgesetzt. Mit ihrer Hilfe lassen sich die leicht löslichen, nicht kontraktilen Proteine weiter fraktionieren. Diese Membranfolien-Elektrophorese ermöglichte uns den Vergleich und die mengenmäßige Verteilung von 11 elektrophoretischen Eiweißkomponenten im Myokard menschlicher Herzen.

B. METHODIK

I. Gewinnung und Bezeichnung des Untersuchungsmaterials

Um zu Ergebnissen zu gelangen, die weder durch praemortale (Erkrankungen) noch postmortale (Autolyse oder bakterielle Zersetzung) Veränderungen beeinträchtigt sind, waren bei der Gewinnung des Untersuchungsmaterials folgende Kautelen zu berücksichtigen (Zollinger - 33):

- Keine Herzmißbildungen
- keine regressiven Störungen wie physiologische oder Altersatrophie oder pathologische Hungeratrophie (Veränderung der Parenchym-Stroma-Relation)
- keine progressiven Veränderungen
- keine exogene Vergiftungen, Autointoxikationen, Allgemeininfektionen mit Stoffwechselstörungen
- keine Herzmuskelerkrankungen.

Wir benötigten also Herzen von erwachsenen Personen, die eine bestimmte Lebensaltersgrenze nicht überschritten hatten und eines gewaltsamen Todes gestorben waren. Meister (20) gibt genauere Angaben über die Herkunft der verwendeten Herzen und die Organentnahme.

Uns standen zwei menschliche Herzen M_1 und M_2 zur Verfügung, aus denen Nowy und Meister durch Extraktion das uns zur Verfügung stehende Untersuchungsmaterial gewonnen hatten.

Die Gewinnung des Herzmuskelextraktes wird von Meister (20) im einzelnen genau erläutert. Im Prinzip handelt es sich um Herzen, deren Coronargefäße mit physiologischer Kochsalz-Lösung durchgespült und damit von Serumproteinen soweit wie möglich freigemacht worden waren. Nach Abpräparieren von Fettschicht, Gefäßstamm und Bindegewebe Durchtrennung des Herzmuskels in der Ventilebene. Die Atrium- und Ventrikelpräparate wurden gesondert bearbeitet: Zerkleinert und mit der doppelten Gewichtsmenge Aqua bidestillata im Eisbad bei 0°C homogenisiert.

Nach der Ultrazentrifugierung des Homogenisates ergaben sich zwei Schichten: Das Sediment, das für uns ohne Bedeutung war und ein klarer brauner Extrakt, den wir für unsere Analyse benötigten. Neben den leicht löslichen Proteinen enthalten solche Extrakte noch andere, nicht untersuchte organische und anorganische Verbindungen. Durch 10-stündige Dialyse des Extraktes wurde die Eiweißkonzentration erhöht und gleichzeitig eine Verringerung der niedermolekularen Substanzen erreicht. Der in kleine Portionen aufgeteilte Extrakt wurde im Kühlschrank bei -20°C eingefroren.

Die Bezeichnung des Untersuchungsmaterials erfolgte folgendermaßen:

V_1 = Extrakt aus Vorhof M_1

K_1 = Extrakt aus Kammer M_1

V_2 und K_2 entsprechend wie oben.

II. Die Membranelektrophorese

Für die Auftrennung benutzten wir die Membranelektrophorese mit Celluloseacetatfolien als horizontale Materialträger nach Kohn (15). Diese Folien, die einen Membranfilter darstellen, ermöglichen eine freie, unbehinderte Wanderung der Moleküle und damit auch eine feinere Trennschärfe und genauere Auswertung als bei der Papier-Elektrophorese.

Von jedem Extrakt fertigten wir je 20, also insgesamt 80 Pherogramme auf Folien des Formates 140×230 mm (Sartorius Membranfilter GmbH, Göttingen) an.

Wir arbeiteten gleichzeitig mit 3 Elektrophorese-Kammern, die den breiten Folien angepaßt waren. Als Puffer verwendeten wir den von Aronsson und Grönwall (1) entwickelten Tris-EDTA-Borsäure-Puffer, pH 8,9,

der folgende Zusammensetzung hat:

Tris	=	605,0 g
EDTA	=	60,0 g
Borsäure	=	46,0 g
Aqua dest. ad	=	10,0 l

Die Durchtränkung der Folien geschah in einer verschließbaren Glaswanne. Jede Folie wurde mit zwei anatomischen Pinzetten an den beiden Längskanten gefaßt und vorsichtig so auf die Oberfläche der Pufferflüssigkeit gelegt, daß die zur Materialaufnahme bestimmte Fläche nach oben gewandt blieb. Wichtig dabei war, zu verhindern, daß sich zwischen der unteren Fläche der Folie und der Oberfläche der Pufferlösung Luftblasen bildeten, die zu ungleichmäßiger Durchtränkung der Membranen geführt hätten. Die schwimmende Folie wurde anschließend mit Hilfe eines Glasstäbchens in die Pufferflüssigkeit getaucht. Wir ließen die Folien mindestens zwei Stunden in der Pufferlösung liegen.

Wir arbeiteten mit Elphor-Kammern (Dr. Bender & Dr. Hobein, Karlsruhe, München, Zürich) und Elphor-Dosimat (Gleichstromspeisegerät) der gleichen Firma.

Die Gesamteiweißbestimmung mit der Biuretmethode ergab folgende Konzentrationen:

Vorhof M ₁	=	3,0 g %	Vorhof M ₂	=	2,25 g %
Kammer M ₁	=	3,4 g %	Kammer M ₂	=	3,8 g %

Das tiefgekühlt gelagerte Material wurde bei Raumtemperatur aufgetaut und 10 Minuten lang bei 4000 U/min und 0°C zentrifugiert.

1. Ausführung der Elektrophorese

Wichtig war beim Auftragen des Materials die rasche Ausführung, da die aus dem Pufferbad genommenen Folien nicht austrocknen durften. Mit der Pinzette nahmen wir

sie aus der Pufferlösung und trockneten sie durch 2 - 3 streichende Bewegungen der Hand zwischen Filterpapier. Die Membrane wurde dann rasch auf zwei nebeneinander liegende Glasplatten gelegt und so fixiert, daß die Startlinie im Spalt zwischen den Platten lag. Der Glasstab wurde auf die durchgehende Markierungslinie gelegt. Unverzüglich wurde der Muskelextrakt mittels Polyäthylen-Kapillaren (mit fein ausgezogenen Spitzen und von 1 mm^2 Querschnitt) aufgetragen. Es wurden ca. 5 Mikroliter des Extraktes mit Schwingbewegungen und leichtem Druck auf die Startlinie gegeben. Die Folien wurden sofort in die Elphor-Kammer gelegt.

Die Auftrennung erfolgt bei 200 V/cm in 8 Stunden.

Nach Beendigung der Fraktionierung wurden die verschiedenen Komponenten durch Amidoschwarz-Lösung sichtbar gemacht.

Die Entfärbung der Folien geschah mit Hilfe von Elphor-Entfärber (Methanol 900 ccm, Eisessig 100 ccm).

Der Entfärber wurde so oft gewechselt, bis sich die Proteinfractionen als blaue Streifen deutlich von dem weißen Grund der Membrane abgrenzten. Die aus dem letzten Waschbad entnommene Folie wurde auf eine Glasplatte gelegt.

Mit Hilfe eines Skalpells wurden rasch bis zu drei 4 cm breite Streifen aus je einer Folie herausgeschnitten und erneut in die Entfärberlösung getaucht. Dadurch wurden Pherogramme mit völlig parallel verlaufenden und senkrecht auf die Schnittträger gerichteten Banden erhalten.

Zur Überführung der Membranstreifen in einen transparenten Film wurde folgende Dioxan-Isobutanol-Mischung benutzt: 7 Tl. Dioxan und 3 Tl. Isobutanol.

Die entfärbten Streifen wurden auf sorgfältig gereinigten, in Elphor-Entfärber gespülten Glasplatten (199 x 39 mm),

bläschenfrei aufgezo-gen. Der überflüssige Entfärber wurde durch eine leichte Streichbewegung des Plexi-glaslineals herausgepreßt. Gleichzeitig entstand eine genügende Haftung der Membrane auf der Glasplatte. So wurde eine Verschiebung der Folie beim Eintauchen ins Transparenzbad vermieden. Die undurchsichtigen Präparate wurden für 5 Minuten in Dioxan-Isobutanol-Lösung gelegt. Anschließend wurden die durchsichtig gewordenen Präparate herausgenommen. Nachdem das Lösungsmittel von den Glas-platten abgetropft war, wurden sie im Thermostat bei 105° 10 Minuten lang getrocknet und transparent gemacht.

2. Auswertung der Fraktionen

Die fertigen Präparate wurden mit einem Elphor-Integraph (Dr. Bender & Dr. Hobein, München) kolorimetrisch ausge-wertet. Wir führten die Streifen an einem 1 mm breiten und 20 mm langen Lichtspalt vorbei, der durch monochro-matisches Licht ausgeleuchtet war.

C. ERGEBNISSE

Auf dem Originalstreifen lassen sich 11 Fraktionen erkennen, die bei der photometrischen Auswertung mehr oder weniger scharfe Gipfel ergeben.

Die Bezeichnung der Banden wurde willkürlich mit 1 - 11 nach ihrer Mobilität vorgenommen (Abb. 1).

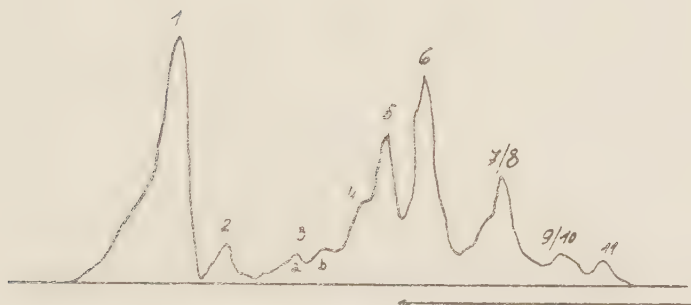


Abb. 1: Schematische Darstellung der Nomenklatur (Nowy)

Schneller als Myoalbumin (Komponente 1) wandernde Banden wurden von uns nicht mit Sicherheit nachgewiesen.

Die Komponenten 7 und 8 sowie 9 und 10 mußten zusammengezogen werden, da sie nicht immer klar abgrenzbar waren.

Vergleiche zwischen den Extinktionskurven von V_1 und K_1 sowie V_2 und K_2 zeigten, daß die Vorhöfe die gleichen Komponenten wie die Kammern enthielten und nur quantitative Unterschiede auftraten. Die Ähnlichkeit der entsprechenden Kurven ist aus Abb. 2 und Abb. 3 ersichtlich.

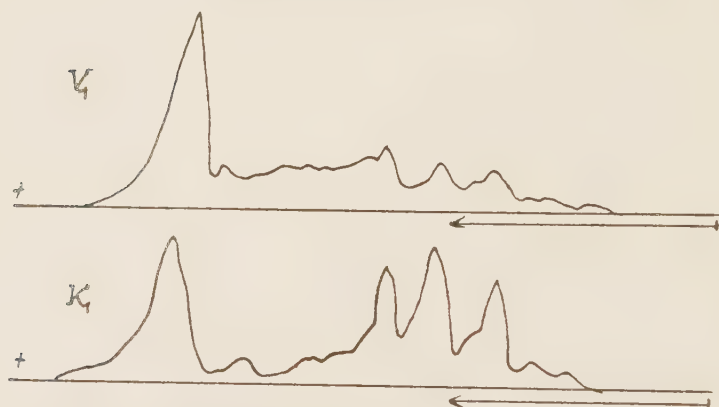


Abb. 2 : Vergleich der Extinktionskurven von V_1 und K_1

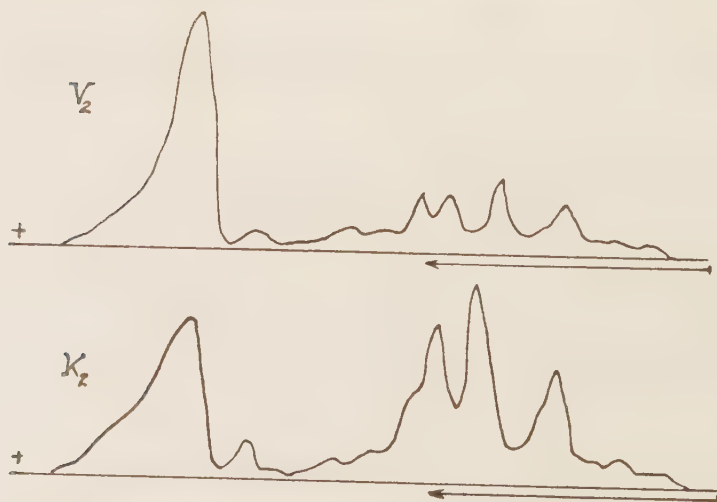


Abb. 3 : Vergleich der Extinktionskurven von V_2 und K_2

K A M M E R M₁

F r a k t i o n e n i n r e l . %

Nr.	1	2	3ab	4	5	6	7/8	9/10	11
1	29,38	7,06	5,97	4,52	12,15	20,90	15,54	3,39	1,13
2	30,86	2,57	1,71	5,14	12,86	22,00	15,71	5,71	3,43
3	28,10	3,33	3,57	7,26	12,62	20,71	15,83	4,76	3,81
4	29,94	3,73	3,60	7,58	11,43	20,62	14,04	5,22	3,85
5	30,00	3,43	3,75	8,28	12,19	20,63	15,16	4,22	2,34
6	30,32	2,06	2,01	6,99	12,35	22,22	14,63	4,66	4,12
7	28,77	3,74	2,49	7,60	12,20	21,17	14,82	5,85	3,36
8	27,36	4,21	4,34	8,95	11,95	19,08	13,58	5,77	2,85
9	29,91	2,51	2,34	4,65	11,45	19,63	17,29	6,31	5,84
10	33,72	4,55	3,73	9,08	12,72	21,04	14,39	5,25	3,41
11	28,90	2,75	2,01	6,13	12,71	20,65	15,23	4,79	3,85
12	27,75	3,59	3,23	7,30	12,80	20,93	13,88	6,34	4,17
13	27,99	3,03	2,60	7,50	13,13	20,63	15,73	6,06	3,32
14	26,74	3,68	2,79	7,60	13,69	21,04	15,59	5,70	3,17
15	29,31	3,10	3,68	6,78	12,87	21,26	13,33	5,98	4,48
16	29,64	3,09	4,02	8,89	11,97	20,74	14,78	5,33	2,53
17	27,60	3,47	4,12	9,17	12,59	19,45	14,77	5,00	2,62
18	28,14	3,52	3,93	10,35	12,84	21,53	15,53	5,69	3,31
19	27,74	4,26	2,78	8,26	10,84	20,90	15,22	6,06	4,00
20	28,13	4,31	3,53	7,71	12,15	21,85	14,79	5,45	5,17

Mittelwert

29,02 3,60 3,31 7,48 12,38 20,85 14,99 5,38 3,54

Streuung (S = $\pm$)

$\pm$ 1,57 $\pm$ 1,04 $\pm$ 0,99 $\pm$ 1,52 $\pm$ 0,65 $\pm$ 0,79 $\pm$ 0,91 $\pm$ 0,74 $\pm$ 1,02

VORHOF M₁

F r a k t i o n e n i n r e l . %

Nr.	1	2	3ab	4	5	6	7/8	9/10	11
1	41,73	5,51	13,11	12,67	6,71	8,95	7,75	2,68	1,78
2	45,20	5,16	10,78	11,16	8,58	8,30	7,87	2,14	0,86
3	45,43	5,00	9,86	11,00	7,29	7,43	9,00	3,29	1,71
4	45,16	5,31	8,67	11,18	8,82	9,03	8,60	2,37	0,76
5	46,49	4,10	10,00	11,56	7,95	8,10	8,29	2,68	0,73
6	44,70	5,71	9,05	10,22	6,70	9,55	8,87	3,69	1,53
7	45,74	6,29	9,13	12,63	7,40	7,72	7,24	2,68	0,94
8	46,27	5,29	10,36	12,36	5,55	8,12	7,90	2,71	1,49
9	43,23	6,14	10,38	12,91	5,99	8,48	7,46	3,65	1,78
10	43,36	6,83	9,46	13,43	7,15	8,32	7,02	2,60	1,82
11	46,75	7,42	9,17	10,08	7,20	8,86	7,31	3,55	1,66
12	47,85	4,70	7,98	10,77	7,65	9,33	8,85	1,91	0,96
13	44,92	5,39	10,20	11,99	6,89	9,40	7,14	2,68	1,40
14	45,57	7,06	9,88	11,31	7,94	8,61	7,54	2,02	1,08
15	46,68	6,13	9,58	11,37	6,39	8,11	7,62	2,42	1,70
16	46,44	5,74	9,13	12,68	6,06	8,73	7,32	2,54	1,41
17	45,29	6,50	9,50	13,09	7,19	7,48	7,91	1,58	1,44
18	44,80	5,50	8,32	13,87	7,42	9,11	7,76	2,24	1,80
19	43,54	5,79	9,35	12,03	7,13	9,58	8,46	2,67	1,45
20	44,55	5,29	9,16	12,64	7,65	8,67	7,44	2,91	1,75

Mittelwert

45,19 5,74 9,65 11,95 7,18 8,59 7,87 2,65 1,40

Streuung (S = ±)

± 1,44 ± 0,81 ± 1,07 ± 1,06 ± 0,82 ± 0,65 ± 0,61 ± 0,56 ± 0,38

K A M M E R M₂

Fraktionen in rel. %

Nr.	1	2	3ab	4	5	6	7/8	9/10	11
1	32,62	4,75	3,37	9,64	9,95	17,15	13,32	5,51	3,68
2	33,98	3,65	2,96	9,22	13,76	20,22	13,46	4,71	3,85
3	27,35	4,06	3,65	9,01	13,23	21,43	13,72	4,71	2,64
4	34,49	3,12	3,68	8,04	12,48	19,57	13,45	4,08	1,32
5	28,37	3,98	3,27	8,98	11,73	22,45	13,88	4,79	2,55
6	30,29	4,13	3,75	8,14	10,51	21,53	13,77	4,63	3,25
7	31,01	4,67	3,82	9,26	11,64	19,71	12,66	4,25	2,97
8	31,20	4,32	3,07	9,75	10,45	20,33	13,51	4,17	3,20
9	30,72	4,13	3,18	9,00	11,97	21,50	12,82	4,56	2,12
10	30,46	4,05	2,64	7,22	10,21	20,01	14,96	4,40	4,05
11	30,88	3,51	2,81	8,07	9,82	21,05	14,91	4,74	4,21
12	29,26	4,39	3,41	10,04	11,21	20,47	13,55	4,88	2,83
13	31,01	3,08	2,46	7,19	11,70	20,55	14,78	5,35	3,90
14	32,08	3,77	3,55	9,21	9,99	21,31	13,21	4,44	2,33
15	32,39	2,74	1,50	10,38	14,70	19,86	13,46	4,32	2,66
16	32,55	2,52	1,88	9,74	13,42	20,63	13,70	4,18	1,37
17	32,46	2,97	2,72	9,52	13,08	18,78	14,19	4,08	2,21
18	32,40	2,41	2,34	8,74	13,72	20,65	13,56	4,22	1,51
19	32,94	3,42	2,70	9,54	11,97	18,81	13,41	4,77	2,43
20	33,11	3,11	2,70	8,96	11,30	20,65	13,25	4,55	2,43

Mittelwert

31,48 3,64 2,97 8,98 11,84 20,33 13,68 4,57 2,78

Streuung ($S = \pm$)

$\pm 1,79 \pm 0,69 \pm 0,63 \pm 0,87 \pm 1,45 \pm 1,18 \pm 0,62 \pm 0,39 \pm 0,87$

V O R H O F M₂

F r a k t i o n e n i n r e l . %

Nr.	1	2	3ab	4	5	6	7/8	9/10	11
1	59,57	2,14	2,71	7,43	6,00	10,14	7,57	3,29	1,14
2	62,05	2,41	2,21	7,63	4,62	8,84	7,63	3,61	1,00
3	63,41	2,66	1,78	7,99	3,91	8,70	6,93	3,02	1,60
4	59,49	3,29	3,14	8,67	5,98	9,42	8,67	3,44	1,05
5	57,82	4,28	3,83	8,11	5,31	8,55	7,62	2,80	1,47
6	57,35	4,48	2,87	7,35	6,27	9,32	7,53	3,23	1,01
7	57,82	4,28	3,83	8,11	5,31	8,55	7,62	2,80	1,47
8	57,43	2,86	2,71	9,29	5,86	9,29	8,00	3,14	1,43
9	59,49	3,29	3,14	8,67	5,98	9,42	8,67	3,44	1,05
10	61,18	2,75	2,58	6,88	5,85	8,43	8,09	2,07	2,24
11	56,08	4,24	2,87	8,20	6,16	8,89	8,48	3,00	2,05
12	58,51	2,74	2,46	8,19	6,09	8,94	8,69	3,23	1,12
13	49,13	4,96	4,71	8,81	6,08	9,93	8,93	4,59	2,85
14	58,42	4,13	2,48	7,59	6,27	8,58	7,59	3,63	1,32
15	59,22	2,75	2,59	6,69	6,15	8,90	7,77	3,07	1,46
16	53,47	3,89	4,03	9,58	6,53	9,72	8,19	3,06	1,53
17	60,96	2,99	1,79	7,57	5,57	8,76	7,97	3,19	1,20
18	59,52	3,27	2,98	7,14	5,95	8,33	7,74	3,27	1,79
19	64,56	1,32	1,01	7,59	5,57	9,37	8,35	2,03	0,51
20	61,29	2,55	1,61	7,26	6,32	9,41	8,20	2,42	0,94

Mittelwert

58,84 3,26 2,77 7,94 5,80 9,07 8,01 3,12 1,41

Streuung (S = $\pm$)

$\pm 3,39 \pm 0,92 \pm 0,89 \pm 0,77 \pm 0,62 \pm 0,51 \pm 0,51 \pm 0,56 \pm 0,52$

I. Besprechung der Ergebnisse

Tabelle 5 : Mittelwerte mit Standardabweichungen

Frakt.	1	2	3ab	4	5	6	7/8	9/10	11
MW _{v₁}	45,19	5,74	9,65	11,95	7,18	8,59	7,87	2,65	1,40
S _{v₁}	±1,44	±0,81	±1,07	±1,06	±0,82	±0,65	±0,61	±0,56	±0,38
MW _{k₁}	29,02	3,60	3,31	7,48	12,38	20,85	14,99	5,38	3,54
S _{k₁}	±1,57	±1,04	±0,99	±1,52	±0,65	±0,79	±0,91	±0,74	±1,02
MW _{v₂}	58,84	3,26	2,77	7,94	5,80	9,07	8,01	3,12	1,41
S _{v₂}	±3,29	±0,92	±0,89	±0,77	±0,62	±0,51	±0,51	±0,56	±0,52
MW _{k₂}	31,48	3,64	2,97	8,98	11,84	20,33	13,68	4,57	2,78
S _{k₂}	±1,79	±0,69	±0,63	±0,87	±1,45	±1,18	±0,62	±0,39	±0,87

Tabelle 5 zeigt, daß die erste Komponente, das Myoalbumin, in den Vorhöfen eine höhere Konzentration aufweist als in den Kammern. Durchschnittlich betrug das Myoalbumin im Vorhof₁ 45,2 Rel.%, wogegen der Wert für Kammer₁ nur 25,0 % betrug; entsprechende Ergebnisse ergaben sich für Vorhof₂ (58,8 Rel.%) und für Kammer₂ (31,5 %).

Dem Myoalbumin folgt die deutlich abgesetzte Fraktion 2, deren Durchschnittswert bei den Vorhöfen zwischen 3 u. 5 %, bei den Kammern um 3 % liegt. Die flache Fraktion 3 zeigt zwei Gipfel, die zusammen ausgewertet wurden. Dabei ergaben sich für die einzelnen Herzabschnitte folgende Relativ-Werte: Vorhof₁ = 9,65 %, Vorhof₂ = 2,77 %, Kammer₁ = 3,31 %, Kammer₂ = 2,97 %.

Die folgende Komponente 4 zeigt in den Vorhöfen eine stärkere Konzentration als in den Kammern, wobei die Differenz beim Vergleich $V_1 - K_1$ größer ausfiel als die Differenz $V_2 - K_2$.

Die Komponente 5 zeigt im Unterschied zu den bisherigen Fraktionen in den Vorhöfen eine niedrigere Konzentration als in den Kammern. Auch für die folgende Fraktion 6 (Myoglobin) ergaben sich für die Kammern höhere Werte als für die Vorhöfe; das gleiche gilt für die zusammengezogenen Komponenten 7/8 und 9/10.

Die Fraktion 11, mit der die Extinktionskurve in flachem Verlauf die Abszisse erreicht, zeigte ebenfalls höhere Konzentration in den Kammern.

II. Statistische Analyse

Wir haben die in Relativ-Prozent umgesetzten Werte der Extinktionskurve miteinander verglichen und die Signifikanz der Unterschiede geprüft.

Verglichen wurden die quantitativen Ergebnisse der Fraktionen 1 bis 11 von Vorhof₁ mit Kammer₁, Vorhof₂ mit Kammer₂, Vorhof₁ mit Vorhof₂ und Kammer₁ mit Kammer₂ (Richterich - 28).

Wir führten den t-Test nach Student (zweiseitig) für unverbundene Stichproben durch, um die Signifikanz zweier Mittelwerte auszurechnen.

Der t-Wert wurde nach folgender Formel berechnet:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{1}{n} - \frac{1}{m}} \sqrt{\frac{1}{n + m - 2} \left[\sum (\bar{x}_i - \bar{x})^2 + \sum (\bar{y}_j - \bar{y})^2 \right]}}$$

Dabei bedeutet:

$\bar{x}$ und $\bar{y}$: Mittelwerte der verglichenen Komponenten

n und m : Stichprobenumfang der verglichenen Fraktionen

$$\bar{x} = \frac{1}{n} (x_1 + x_2 + \dots x_n)$$

$$\bar{y} = \frac{1}{m} (y_1 + y_2 + \dots y_m)$$

Folgende t-Werte ergaben sich beim Vergleich von:

$V_1 - K_1$

=====

Fraktionen	t-Wert
1	33,90
2	7,29
3ab	19,40
4	10,76
5	22,19
6	53,75
7/8	29,21
9/10	13,11
11	8,79

$V_2 - K_2$

=====

Fraktionen	t-Wert
1	31,89
2	1,45
3ab	0,84
4	4,03
5	17,17
6	39,21
7/8	31,83
9/10	9,55
11	6,04

$V_1 - V_2$

=====

Fraktionen	t-Wert
1	6,57
2	9,05
3ab	22,22
4	10,15
5	6,03
6	2,61
7/8	0,82
9/10	2,63
11	0,06

$K_1 - K_2$

=====

Fraktionen	t-Wert
1	4,62
2	0,14
3ab	1,28
4	3,82
5	1,50
6	1,63
7/8	5,37
9/10	4,33
11	2,53

Die Signifikanz der Unterschiede wird durch p ausgedrückt. Dabei wurden zwei Werte für p festgelegt:

- p = 0,05 (Wahrscheinlichkeitsgrade 95 %, Irrtumswahrscheinlichkeit 5 %)
p = 0,01 (Wahrscheinlichkeitsgrade 99 %, Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %)

Bei 38 Freiheitsgraden ist der kritische t-Wert für p = 0,05, t = 2,0 und für p = 0,01, t = 2,7. Das besagt, daß bei einem t-Wert über 2,0 der Grad der Wahrscheinlichkeit eines Unterschiedes 95 % beträgt, bei einem t-Wert von über 2,7 liegt der Wahrscheinlichkeitsgrad bei 99 %.

Vergleich der Proteinfractionen von Vorhof₁ und Kammer₁

Fraktion 1 :

$\bar{x} = 45,19$, $\bar{y} = 29,02$; t = 33,90

Somit beträgt die Wahrscheinlichkeit für einen wesentlichen Unterschied 99 %, die Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 2 :

$\bar{x} = 5,74$, $\bar{y} = 3,60$; t = 7,29

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %, Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 3ab:

$\bar{x} = 9,65$, $\bar{y} = 3,31$; t = 19,40

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %, Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 4 :

$\bar{x} = 11,95$, $\bar{y} = 7,48$; t = 10,76

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %, Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 5 :

$\bar{x} = 7,18$, $\bar{y} = 12,38$; t = 22,19

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %, Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 6 :

$$\bar{x} = 8,59, \bar{y} = 20,25; t = 53,75$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 7/8:

$$\bar{x} = 7,87, \bar{y} = 14,99; t = 29,21$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 9/10:

$$\bar{x} = 2,65, \bar{y} = 5,38; t = 13,11$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 11:

$$\bar{x} = 1,40, \bar{y} = 3,54; t = 8,79$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Vergleich der Proteinfractionen von Vorhof₂ und Kammer₂

Fraktion 1 :

$$\bar{x} = 58,84, \bar{y} = 31,48; t = 31,89$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 2 :

$$\bar{x} = 3,26, \bar{y} = 3,64; t = 1,45$$

Dieser t-Wert liegt unter dem kritischen t-Wert, es besteht somit keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 3ab:

$$\bar{x} = 2,77, \bar{y} = 2,97; t = 0,84$$

Dieser t-Wert liegt unter dem kritischen t-Wert, es besteht somit keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 4 :

$$\bar{x} = 7,94, \bar{y} = 8,98; t = 4,03$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 5 :

$$\bar{x} = 5,80, \bar{y} = 11,84; t = 17,17$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 6 :

$$\bar{x} = 9,07, \bar{y} = 20,33; t = 39,21$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 7/8:

$$\bar{x} = 8,01, \bar{y} = 13,68; t = 31,83$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 9/10:

$$\bar{x} = 3,12, \bar{y} = 4,57; t = 9,55$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 11:

$$\bar{x} = 1,41, \bar{y} = 2,78; t = 6,04$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Vergleich der Proteinfractionen von Vorhof₁ und Vorhof₂

Fraktion 1 :

$$\bar{x} = 45,19, \bar{y} = 58,84; t = 16,57$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 2 :

$$\bar{x} = 5,74, \bar{y} = 3,26; t = 9,05$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 3ab:

$$\bar{x} = 9,65, \bar{y} = 2,77; t = 22,22$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 4 :

$$\bar{x} = 11,95, \bar{y} = 7,94; t = 10,15$$

Wahrscheinlichkeit für wesentlichen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 5 :

$$\bar{x} = 7,18, \bar{y} = 5,80; t = 6,03$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 6 :

$$\bar{x} = 8,59, \bar{y} = 9,07; t = 2,61$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 95 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 5 %.

Fraktion 7/8:

$$\bar{x} = 7,87, \bar{y} = 8,01; t = 0,82$$

Dieser t-Wert liegt unter dem kritischen t-Wert, es besteht keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 9/10:

$$\bar{x} = 2,65, \bar{y} = 3,12; t = 2,63$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 95 %,
Irrtumswahrscheinlichkeit 5 %.

Fraktion 11:

$$\bar{x} = 1,40, \bar{y} = 1,41; t = 0,06$$

Dieser t-Wert liegt unter dem kritischen t-Wert, es besteht somit keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Vergleich der Proteinfractionen von Kammer₁ und Kammer₂

Fraktion 1 :

$$\bar{x} = 29,02, \bar{y} = 31,48; t = 4,62$$

Somit besteht die Wahrscheinlichkeit für einen wesentlichen Unterschied 99 %, die Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 2 :

$$\bar{x} = 3,60, \bar{y} = 3,64; t = 0,14$$

Dieser t-Wert liegt unter dem kritischen t-Wert, es besteht somit keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 3ab:

$$\bar{x} = 3,31, \bar{y} = 2,97; t = 1,28$$

Es besteht keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 4 :

$$\bar{x} = 7,48, \bar{y} = 8,98; t = 3,82$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,

Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 5 :

$$\bar{x} = 12,38, \bar{y} = 11,84; t = 1,50$$

Dieser t-Wert liegt unter dem kritischen t-Wert, es besteht somit keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 6 :

$$\bar{x} = 20,85, \bar{y} = 20,33; t = 1,63$$

Es besteht keine Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied.

Fraktion 7/8:

$$\bar{x} = 14,99, \bar{y} = 13,68; t = 5,37$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,

Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 9/10:

$$\bar{x} = 5,38, \bar{y} = 4,57; t = 4,33$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 99 %,

Irrtumswahrscheinlichkeit 1 %.

Fraktion 11:

$$\bar{x} = 3,54, \bar{y} = 2,78; t = 2,53$$

Wahrscheinlichkeit für einen Unterschied 95 %,

Irrtumswahrscheinlichkeit 5 %.

D. DISKUSSION

Diskussion der Methodik

In der vorliegenden Arbeit gelang es, mit Hilfe der Membranfolien-Elektrophorese, Einblick in die quantitative Zusammensetzung der Herzmuskelproteine zu gewinnen. Die Betrachtung des Myokardextraktes hinsichtlich seines elektrophoretischen Verhaltens gibt nur eine grobe Orientierung über das Verteilungsmuster der Herzmuskelproteine. Durch Isolierung und Reindarstellung der Einzelkomponenten und Acrylamidgel-Elektrophorese wäre es möglich, ein genaueres Bild über ihren Aufbau zu gewinnen. In diesem Sinne hat Nowy (24) - wie Meister (20) berichtet - zunächst durch kontinuierliche, trägerfreie Elektrophorese größere Mengen von noch uneinheitlichen Fraktionen hergestellt, die er dann mittels mehrmaliger präparativer Papierelektrophorese weiter reinigte; die dadurch gewonnenen neun Fraktionen wurden anschließend gelchromatographisch aufgeschlüsselt. Meister (20) hat eine Auftrennung der Muskelproteine nach ihrem chromatographischen Verhalten und ihrer elektrophoretischen Mobilität durchgeführt. So konnte er durch zweidimensionale Vergleiche eines Extraktes eine weitere Aufschlüsselung der Herzmuskelproteine erreichen.

Die von uns verwendeten Celluloseacetatfolien weisen gegenüber Filterpapier als Trägermaterial verschiedene Vorteile auf. So erwähnt Kohn (16) folgende Punkte:

- Relativ kurze Trennungszeit durch homogene Struktur des Materials bei gleichförmiger Porenweite
- minimale Adsorption der Proteine, wodurch deren Ansammlung an der Auftragungslinie unterbleibt
- schärfere Trennung der Banden
- durch Behandlung mit anquellenden Lösungsmitteln und anschließende Trocknung Gewinnung von glasklaren Präparaten, wodurch eine sehr genaue Auswertung möglich wird.

Neben der Beschaffenheit des Trägermaterials hat die Zusammensetzung des verwendeten Puffers entscheidenden Einfluß auf die Qualität des Pherogramms. Verschiedene Puffer-Lösungen führen zu unterschiedlichen Pherogrammen. So erhält Ferris (9) bei der Verwendung von sechs verschiedenen Puffer-Lösungen bei der Acrylamidgel-Elektrophorese des Serums stark variierende Ergebnisse.

Wir verwendeten den von Aronsson und Grönwall (1) entwickelten Tris-EDTA-Borsäure-Puffer, da dieser eine gute Trennschärfe gewährleistet.

Eine Beeinflussung der Pherogramme ergibt sich auch durch die verwendete Spannung und die Dauer der Laufzeit. Wir arbeiteten mit der von Nowy empfohlenen Spannung von 200 Volt bei einer Laufzeit von 8 Stunden. Nowy (25) erzielt allerdings in letzter Zeit eine bessere Trennung der Proteinfractionen bei Verwendung einer Spannung von 100 Volt und 18 Stunden Laufzeit.

Der von uns untersuchte Herzmuskelextrakt wurde, wie schon erwähnt, von Meister (20) aus gesunder Herzmuskulatur gewonnen. Darauf hinzuweisen erscheint uns wichtig, da Haan (11) beim elektrophoretischen Vergleich von gesunder und atrophischer Skelettmuskulatur einen Anstieg der am schnellsten beweglichen Komponente bei gleichzeitigem Absinken des Prozentgehaltes der langsameren Komponenten im atrophischen Muskel findet; auch Crepax (4) stellt im atrophischen Skelettmuskel eine relative Zunahme von Myoalbumin fest.

Bei der Untersuchung des Einflusses von Alterung und Einfrieren auf Rindermuskel stellen Kronmann und Winterbottom (17) eine verminderte Extrahierbarkeit wasserlöslicher Proteine nach 7-tägiger Lagerung bei 3°C oder nach 5-wöchigem Einfrieren bei - 20°C fest, wobei sich in der Elektrophorese eine Zunahme der langsamer wandernden und eine Abnahme der schneller wandernden Komponenten ergibt. Der uns zur Verfügung stehende Extrakt wurde von Meister bereits innerhalb 24 Stunden nach Todeseintritt gewonnen. Die Tiefkühl-

lagerung von Muskelextrakten hat nach der Untersuchung von Bauer et.al. (2) keinen nennenswerten Einfluß auf den Ausfall der Pherogramme. Auch können sie, wie MacKenzie und Luyet (19), keine Veränderung der Löslichkeit der Proteine durch das langsame Auftauen von gefriergetrocknetem Gewebe feststellen. Meister (20) findet keine qualitative Veränderung der Proteinzusammensetzung von Myokardextrakt nach längerer Tiefkühl-lagerung.

Da es bei Autopsie-Organen praktisch unmöglich ist, diese durch Perfusion vollständig von Blutbeimengungen zu reinigen, ist auch bei den von uns verwendeten Extrakten mit Beimengungen von Serumproteinen und Hämoglobin zu rechnen. So stellt Heghes (13) bei der Elektrophorese menschlicher Muskelextrakte zwei Albuminkomponenten dar, von denen die langsamer wandernde mit dem Serum-Albumin übereinstimmt. Auch Whipple und Woodruff (31) betonen, daß Erythrozyten nur unvollständig aus Leichenherzen ausgespült werden können.

Bei Verwendung der Celluloseazetatfolien-Elektrophorese konnten wir, wie schon erwähnt, 11 verschiedene Komponenten darstellen. Bei der elektrophoretischen Analyse von Lebergewebe auf Celluloseazetatfolien stellen Winterhoff und Drewitz (32) 17 verschiedene Proteinfractionen dar. Bei der Untersuchung von Myokardextrakten von Kalb und Mensch erhält Meister (20) 10 gut voneinander trennbare Komponenten. Im Gegensatz zu einer von Bauer (2) und anderen Autoren verwendeten Nomenklatur mit Zuordnung der Herzmuskelproteine zu den Serumproteinen benützen Nowy (23) und andere Autoren eine andere Nomenklatur. Danach wird die am schnellsten wandernde Komponente, das Myoalbumin, als Fraktion 1 bezeichnet, während Fraktion 6 das rotbraun erscheinende Myoglobin enthält. Komponenten mit höherer Mobilität als Myoalbumin werden als Praealbumine bezeichnet.

Aronsson und Grönwall (1) erhalten bei der Papier-Elektrophorese mit Tris-EDTA-Borsäure-Puffer eine Trennung der

Serumproteine in 9 Fraktionen, von denen die erste die Fracalbumine enthält. Zur regelmäßigen Darstellung eines Praealbumins führen auch die vergleichenden Serum-Elektrophoresen auf Papier und CAF als Materialträger von Oriol-Bosch (27). Diese Praealbumine konnten bei unseren Versuchen nicht dargestellt werden.

Heghes (13) findet bei der Stärkegel-Elektrophorese von in Lösungen mit niedriger Ionenstärke löslichen Muskelproteinen eine schnell bewegliche Fraktion mit zwei Subkomponenten, von denen nach seiner Meinung die schneller wandernde Myoalbumin und die langsamer wandernde Serumalbumin enthält. Formanek et al. (10) weisen bei der Polyacrylamidgel-Elektrophorese von Muskelextrakten nach, daß die Myoalbuminfraktion kein einheitliches Protein darstellt, sondern eine Auftrennung der Albuminzone in 3 Komponenten möglich ist. Auch Nowy (26) weist im Gegensatz zu Dubuissou in der Regel mindestens 2 Subkomponenten der Myoalbuminfraktion nach. Nach Meister (20) besteht die Myoalbumin-Bande vom menschlichen Myokardextrakt aus zwei sich überlagernden Zonen, wobei die langsamere Komponente mit dem Serumalbumin übereinstimmt. Er vermutet, daß diese Komponente aus Blutverunreinigungen des Extraktes herkommt. Auch bei unseren Untersuchungen ergab sich eine mehr oder weniger deutliche Aufspaltung der Fraktion 1 in 2 Komponenten, wobei nicht entschieden ist, ob es sich dabei um eine Fraktionierung der Myoalbumine oder um eine Überlagerung der Myoalbumine durch Serumalbumine handelte.

Verschiedene Autoren geben eine Unterteilung der Myoglobine-Fraktion in Subkomponenten an. Blessing (3) gelingt mit der Stärkegel-Elektrophorese von menschlichem Myokardextrakt eine Auftrennung des Myoglobins in 4 Fraktionen. Nach Latham (18) besteht das Hundemyoglobin bei pH 8,6 aus zwei Banden. Meister (20) nimmt an, daß sich Myoglobin bei der Membran-Elektrophorese als einheitliche Fraktion darstellt, gibt aber gleichzeitig zu bedenken, daß die in seinem Thermo-gramm darge-

stellten Komponenten 5b und 8b ein dem Myoglobin ähnliches Molekulargewicht besitzen. Bei unseren Versuchen hat sich die Komponente 6 - das Myoglobin - als einheitliches Band dargestellt.

Die Komponenten 2, 5 und 11 erwiesen sich in unseren Versuchen als einheitlich, während die Komponenten 3 und 4 eine Unterteilung in 2 eng nebeneinanderliegenden Subkomponenten zeigten. Da die Komponenten 7 und 8 bzw. 9 und 10 nicht scharf voneinander abgrenzbar waren, wurden diese bei der Auswertung zusammengefaßt.

Bei der quantitativen Auswertung ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen Vorhof und Kammer bezüglich der Konzentration einzelner Komponenten. Cruck (5) verglich elektrophoretisch die Proteine von Vorhof-, Kammer- und Knotengewebe und stellte dabei quantitative Unterschiede fest. So liegt das Myoalbumin in Vorhof und Knotengewebe in höherer Konzentration vor als in den Kammern, während das Myogen umgekehrt im Vergleich zum Vorhof in den Kammern vermehrt auftritt.

Crepax (4) weist darauf hin, daß ein Zusammenhang zwischen dem Proteinemuster und den funktionellen Eigenschaften verschiedener Muskel besteht. Beim Vergleich von Muskeln mit rascher und langsamer Kontraktion stellt er fest, daß sich die quantitativen Verhältnisse zwischen der Myogengruppe und dem Myoalbumin ändern, wobei die erstere ab- und das letztere zunimmt.

Quantitative Unterschiede nach Helander (12) liegen auch zwischen dem Myokard und seinem Reizleitungssystem vor; das Knotengewebe zeigt zusätzliche Komponenten und besitzt Ähnlichkeit mit dem Nervengewebe. Weiter gibt er an, daß die wasserlöslichen Proteine des embryonalen und erwachsenen Myokards und des Skelettmuskels wesentliche Unterschiede zeigen und daß diese Abweichungen nicht nur in der quantitativen, sondern auch in der qualitativen Zusammensetzung bestehen.

Nowys (23) Analysen ergeben unterschiedliche Konzentrationen der Myokardproteine im linken Ventrikel, rechten

Ventrikel und Vorhof. Zu ähnlichen Ergebnissen kommt auch Roth (29) bei Kaninchenherzen. Unsere Pherogramme zeigten eine deutlich höhere Konzentration des Myoalbumins in den Vorhöfen von M_1 und M_2 als in den entsprechenden Kammern. Auch die Fraktion 4 ist im Vorhofmyokard in relativ größerer Menge vorhanden, als im Kammermyokard. Dagegen ergaben sich umgekehrte Verhältnisse bei den Fraktionen 5 und 6 mit deutlich höheren Werten in den Kammern.

Blutbeimengungen scheinen nach Mittelbach und Hamburger (21) für Skelettmuskelpherogramme keine größeren Fehlerquellen darzustellen. Auch Bauer und Mitarbeiter (2) können keine Unterschiede hinsichtlich der Verteilung der Proteinfractionen, deren Anzahl und Mobilität, zwischen blutigen und ausgebluteten Rattenmuskeln beobachten. Bei unseren Untersuchungen an menschlicher Herzmuskulatur ergaben sich sowohl beim Vergleich der Kammern als auch der Vorhöfe untereinander in einigen Fraktionen Konzentrationsunterschiede, die aber doch auf verschiedener Beimischung von Serumproteinen beruhen könnten.

Über Abweichungen der Pherogramme aus pathologisch veränderter Muskulatur berichten mehrere Autoren. Mittelbach und Hamburger (22) finden Unterschiede in den Protein- und Enzymmustern von normaler und pathologisch veränderter menschlicher Skelettmuskulatur (neurogene Atrophien, Myopathien, Myositis).

Unseres Wissens sind solche Untersuchungen am pathologisch veränderten menschlichen Myokard nicht durchgeführt worden. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen an normalen Herzen können einen Beitrag zu solchen Vergleichen abgeben.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden mit Hilfe der Celluloseacetat-Elektrophorese unter Verwendung von Tris-EDTA-Borsäure-Puffer die löslichen, nicht kontraktile Herzmuskelproteine von Vorhöfen und Kammern zweier gesunder menschlicher Herzen fraktioniert. Alle Pherogramme zeigen 11 voneinander trennbare Fraktionen. Wir vergleichen die Konzentrationen der verschiedenen Fraktionen in Vorhöfen und Kammern. Beim Vergleich der Vorhöfe mit den Kammern zeigt die Fraktion 1 (Myoalbumin) in den Vorhöfen höhere Konzentrationen als in den Kammern. Trotz der Konzentrationsschwankungen der Fraktionen 2 und 3 in den Vorhöfen ist anzunehmen, daß hier keine wesentlichen Unterschiede zwischen Vorhöfen und Kammern vorliegen.

Fraktion 4 zeigt in den Vorhöfen eine höhere Konzentration als in den Kammern, während bei Fraktion 5, 6 (Myoglobin), 7/8, 9/10 sowie 11 die Konzentration in den Kammern höher liegt. Beim Vergleich der Vorhöfe bestehen sowohl für Fraktion 7/8 als auch für Fraktion 11 keine Differenzen, während der Vergleich der entsprechenden übrigen Fraktionen der beiden Vorhöfe Konzentrationsunterschiede zeigt. Beim Vergleich der entsprechenden Fraktionen beider Kammern zeigen lediglich die Fraktionen 2, 3ab, 5 und 6 keine unterschiedliche Konzentration. Die Differenzen, die sowohl beim Vergleich der beiden Vorhöfe als auch der beiden Kammern in einigen Fraktionen auftreten, könnten auf Beimengungen von Serumproteinen und Hämoglobin zurückzuführen sein.

LITERATURNACHWEIS

1. ARONSSON, T., A. GRÖNWALL: Improved Separation of Serum Proteins in Paper-Electrophoresis - A New Electrophoresis Buffer. Scandinavian J. Clin. Labor, Investig. 9, 338 (1957)
2. BAUER, H., F. GLÖTZNER, I. SCHWARZE, K. SCHMALBACH: Elektrophoretische und immuno-elektrophoretische Studien über Muskelproteine Klin. Wschr. 42, 1198 (1964)
3. BLESSING, M. H.: Über den Myoglobingehalt des Herzmuskels des Menschen Arch. Kreisl.-Forsch. 52, 236 Frankfurt (1967)
4. CREPAX, P.: Etude Electrophoretique D'extraits de Musclev Doucs de Différentes Propriétés Morphologiques et Fonctionnelles Biochim. Biophys. Acta 9, 385 (1952)
5. CRUCK, S.: Contribution a la Biochimie Comparée des Protéines Musculaires dans les Différentes Compartiments du Cœur de veau Biochim. Biophys. Acta 10, 630 (1953)
6. DEMLING, L., H. KINZLMEIER, N. HENNING: Über die quantitative Zusammensetzung der Organproteine. Z. ges. exp. Med. 122, 416 (1954)
7. DUBUISSON, M.: Modifications dans la structure physicochimique de l'édifié contractile au cours du cycle de la contraction musculaire Biochim. Biophys. Acta 4, 25 (1950)

8. DUBUISSON, M., J. JACOB: Electrophorèse de protéines musculaires
Experientia Basel 1, 272 (1945)
9. FERRIS, T.G., R.E. EASTERLING, R.E. BUDD: Electrophoresis of Serum Proteins in Acrylamid Gel - Effect of Buffers on Separation and Mobility
Analyt. Biochem. 8, 477 (1964)
10. FORMANEK, K., R. KASCHITZ, J. PATSCH: Über die molekulare Heterogenität von Myoalbumin aus Rattenmuskulatur
Hoppe-Seylers Z. phys. Chem. 348, 1552 (1967)
11. HAAN, A.: Electrophoresis of the non-structured proteins from normal and atrophic muscles of rabbit and of man
Biochim. Biophys. Acta 11, 258 (1953)
12. HELANDER, E.: Studies of Chemical Components of the Conducting Systems of the Heart
Cardiologia 47, 146 (1965)
13. HEGHES, B.P.: Effect of Degeneration on the Albumin Components of Human Muscle Extracts
Nature 188, 1028 (1960)
14. HEGHES, B.P.: The Electrophoresis of Some Human Muscle Proteins on Starch Gels
Biochem. Biophys. Res. Commun. 1, 194 (1959)
15. KOHN, J.: A Cellulose Acetate Supporting Medium for Zone Electrophoresis
Clin. Chim. Acta 2, 297 (1957)

16. KOHN, H.: Zur Technik der Celluloseacetat-Elektrophorese
Ärztlich.Lab. 10, 233/269 (1964)
17. KRONMANN, M.J., R.J.WINTERBOTTOM: Post Mortem Changes in the Water Soluble Proteins of Bovine Skeletal Muscle during Aging and Freezing;
J.agric.Food Chem. 8, 57 (1960)
18. LATHAM, W.: The Binding of Myoglobin by Plasma Protein
J.exp.Med. 111, 65 (1960)
19. MacKENZIE, A.P., B.J.LUYET: Freeze-Drying and Protein Denaturation in Muscle Tissues; Losses in Protein Solubility
Nature 215, 83 (1967)
20. MEISTER, G.: Säulen-Gelchromatographie und Elektrophorese menschlicher Herzmuskelproteine mit Molekulargewichtsschätzungen
Dissertation München 1973
21. MITTELBACH, F., K.HAMBURGER: Die Proteinfraktionen des menschlichen Skelettmuskels in der direkten Gewebs-Disc-Elektrophorese und ihre Zuordnung zu verschiedenen Enzymaktivitäten
Klin.Wschr. 47, 311 (1969)
22. MITTELBACH, F., K.HAMBURGER: Vergleichende elektrophoretische Untersuchungen über Muskelproteine bei normalen, neurogen atrophischen und myopathisch veränderten Skelettmuskeln
Klin.Wschr. 48, 212 (1970)

23. NOWY, H.: Elektrophoretische Analysen von
Herzmuskelproteinen
Mat.Med.Nordmark 17, 509 (1965)
24. NOWY, H.: Molekulargewichtsschätzung elek-
trophoretischer Komponenten von
Herzmuskelproteinen
Nicht veröffentlichte Arbeit
25. NOWY, H.: Persönliche Mitteilung
26. NOWY, H., W. SEITZ: Elektrophoretische Untersuchungen
des fixierten Kaninchenherzen
Z.Ges.exp.Med. 126, 1 (1965)
27. ORICL-BOSCH, A., K.D. VOIGT: Über die Anwendung einer Cellulose-
Acetat-Folie für die Eiweißelektro-
phorese
Klin.Wschr. 37, 758 (1959)
28. RICHTERICH, R.: Klinische Chemie 3. Aufl., 34 (1971)
29. ROTH, W.: Elektrophoretische Untersuchungen
der Proteine des Kaninchenherzens
Dissertation München 1969
30. SMITHIES, O.: Zone Electrophoresis in Starch
Gels: Group Variations in the Serum
Protein of normal human Adults
Biochem.J. 61, 629-641 (1955)
31. WHIPPLE, G.H., W.W. WOODRUFF: Muscle Hämoglobin in human
Autopsy Material
Amer.J.Physiol. 4, 75 (1928)
32. WINTERHOFF, D., B. DREWITZ: Zur Methode der Elektrophorese von
10mg Lebergewebe auf Cellulose-
acetatfolie
Z.klin.Chem. 9, 31 (1971)
33. ZOLLINGER, H.U.: Patholog.Anatomie, Stuttgart B.1,
7, 12, 30, 81 u. B.2, 7 (1969)

LEBENS LAUF

Geboren am 16.08.1942 in Vladischki-Han/Jugoslawien.

Volksschule von 1950 - 1954 in Bulgarien.

Gymnasium von 1954 - 1961 in Bulgarien.

Studium der Medizin von 1963 - 1968 in Varna/Bulgarien,

vom SS 1970 - WS 1971/72 in München

an der Ludwig-Maximilian-Universität.

Staatsexamen am 01.08.1972 an der Ludwig-Maximilian-

Universität, München.

Med.-Ass.-Praktikum vom 1.11.1972 - 31.10.1973

in Regensburg.

Zurzeit Wiss.-Ass. für Anaesthesiologie im Klinikum

Charlottenburg der Freien Universität

Berlin.

